

## 2 Morfología y estructura bacteriana

M. Pérez, M. Mota

### Introducción e importancia del tema

En las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultraestructura bacteriana, lográndose una identificación bioquímica de muchas fracciones subcelulares; estos avances han permitido ubicar a las bacterias en el reino Procaryotae.

El conocimiento de las diferentes estructuras y composición ha permitido comprender como muchas bacterias se relacionan con el hombre, ya sea como integrantes de la flora normal o como agresoras para el mismo.

El descubrimiento de que muchas estructuras bacterianas bien identificadas son inmunógenos importantes, permitió el desarrollo de vacunas que han sido verdaderos avances en la medicina de los últimos años. Ejemplo de ello son las vacunas contra microorganismos causantes de meningoencefalitis supurada como *Haemophilus influenzae* tipo b y *Neisseria meningitidis* (meningococo) A, B y C.

El conocimiento de la composición bioquímica de las diferentes estructuras bacterianas, junto al conocimiento del metabolismo bacteriano, permite hoy la comprensión del mecanismo de acción de los diferentes antibióticos.

Recientemente, los avances de la genética bacteriana hicieron posible el desarrollo de técnicas de biología molecular con aplicaciones a nivel de la investigación científica y el diagnóstico.

La observación al microscopio óptico con distintas coloraciones y de los cultivos bacterianos, tienen un rol importante en la identificación de las bacterias y su ubicación taxonómica.

### Definición y ubicación taxonómica

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada, como *Chlamydias* y *Rickettsias*. Tienen los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento.

Las bacterias integran el reino procariota (pro de primitivo y cariota de núcleo).

Todos los organismos vivos se pueden dividir en dos tipos celulares: eucariotas y procariotas. Tienen estructuras en común como la membrana celular, los ribosomas encargados de la síntesis proteica y el ácido desoxirribonucleico (ADN) portador de la información genética.

Los organismos multicelulares, animales y plantas, están constituidos por células eucariotas (eu de verdadero). Los protistas, los hongos y las algas que se organizan de forma unicelular, multicelular o en colonias (como los protistas), también poseen células eucariotas.

Dentro de este esquema, las bacterias son microorganismos unicelulares procariotas. En este reino, según criterios evolutivos, diferenciamos el grupo de las eubacterias y el de las arqueobacterias. Este último comprende bacterias sin peptidoglicano como las anaerobias que viven en condiciones ácidas calientes, las que viven en condiciones salinas y las que reducen el anhídrido carbónico ( $\text{CO}_2$ ) a metano. Por lo tanto éstas viven en las profundidades del mar, en las aguas saladas y en las fuentes ácidas. Las eubacterias, en cambio, viven en el suelo, el agua y los organismos vivos; entre ellas se encuentran las bacterias de interés médico, las bacterias verdes fotosintetizadoras, las cianobacterias o algas verdeazules y las bacterias púrpuras fotosintetizadoras. A continuación nos referiremos a las eubacterias simplemente como bacterias.

Como característica principal, los procariotas no poseen compartimientos intracelulares delimitados por membranas, por lo que carecen de membrana nuclear, a diferencia de los eucariotas. También es importante destacar que el ADN procariota es circular y cerrado, mientras que el eucariota se organiza en cromosomas individuales y se asocia a proteínas de tipo histonas. Las bacterias poseen una pared celular compuesta por peptidoglicano (a excepción de los *Mycoplasmas*) mientras que las células eucariotas no tienen este tipo de pared (la pared celular de los vegetales es de celulosa). La reproducción en los eucariotas puede ser tanto sexuada como asexuada, mientras que los procariotas se reproducen por división simple (forma asexuada). El tamaño de la célula eucariota es mayor que el de la procariota. Los procariotas no poseen citoesqueleto, a diferencia de los eucariotas. Otra diferencia es la presencia de fimbrias o pilis en las bacterias. Los procariotas pueden poseer flagelos, mientras que los de los eucariotas si los poseen, éstos tienen una estructura más compleja. Por último mencionar que mientras las células eucariotas se reproducen por mitosis, las células procariotas lo hacen por fisión binaria. En dicho proceso la célula crece, se forma un tabique y finalmente se desprenden dos células nuevas. En este proceso se produce también la replicación del ADN, de forma que las células hijas contienen cada una un duplicado idéntico del genoma de la progenitora.

### TAMAÑO

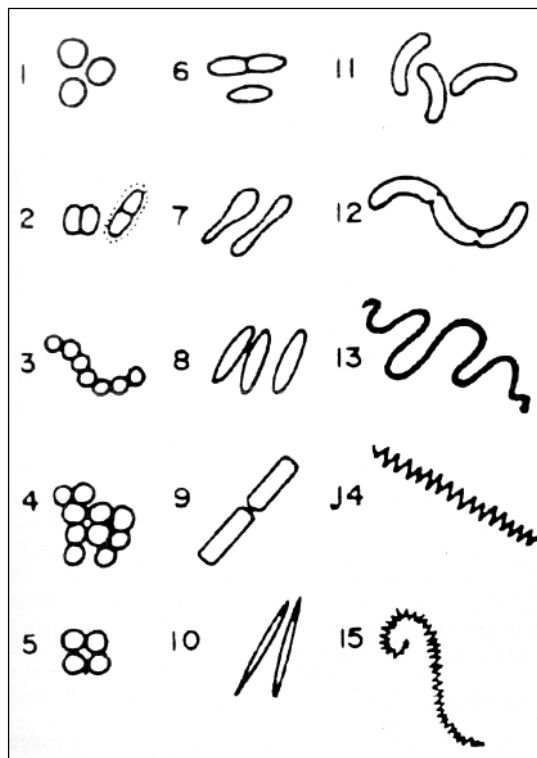
El tamaño de las bacterias oscila entre las 0.5 y 3  $\mu\text{m}$ , pudiendo llegar en algunos tipos a 10  $\mu\text{m}$ . Las bacterias de interés médico tienen un tamaño entre 0.4 y 2  $\mu\text{m}$ . Solo son visibles entonces, al microscopio óptico o microscopio electrónico. Para observarlas con el microscopio óptico se usa el objetivo de inmersión (100X), sumergiendo esta lente en una gota de aceite (aceite de inmersión) en el preparado a observar. A modo comparativo, una célula eucariota mide más de 5  $\mu\text{m}$  (un eritrocito tiene un diámetro de 7  $\mu\text{m}$ ), mientras que un reovirus mide menos de 0.1  $\mu\text{m}$ . Su tamaño pequeño determina una relación entre la superficie y el volumen elevada, con alta tasa metabólica.

### MORFOLOGÍA

#### Microscópica

La forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral); dentro de estas últimas se encuentran: *Treponema*, *Borrelia* y *Leptospira* (ver figura 1). Las espirilos varían en el número de vueltas,

**Figura 2. Morfología:** 1. cocos; 2. diplococo; 3. cocos en cadenas; 4. cocos en racimos; 5. cocos en tetradas; 6. cocobacilos; 7. bacilos; 8. bacilos bordes redondeados; 9. bacilos bordes rectos; 10. bacilos fusiformes; 11, 12. bacilos curvos; 13 al 15. espiroquetas



desde pocas (*Borrelia*) a muchas (*Treponema*). Las bacterias pueden mantenerse unidas unas con otras después de la división celular, pero conservando siempre la independencia celular. Si el plano de división es único, podemos encontrar diplococos o cocos en cadena (microorganismos del género *Streptococcus*). Si los planos de división son muchos, los cocos pueden agruparse en tetradas o en racimos (*Staphylococcus*). Los bacilos pueden ser muy cortos (cocobacilos) o muy largos. Sus extremos pueden ser redondeados o rectos; pueden estar aislados, en cadenas, en filamentos o formando letras chinas (*Corynebacterium*). Los bacilos curvos pueden tener forma de coma (*Vibrio cholerae*).

La morfología bacteriana debe ser observada con el microscopio óptico o el microscopio electrónico, dado el tamaño pequeño de estos microorganismos. El más usado en el laboratorio es el microscopio óptico de campo claro, pero existen otros como el microscopio óptico de campo oscuro en los que los organismos aparecen brillantes en fondo oscuro. Este microscopio permite la visualización de bacterias difíciles de colorear como el *Treponema pallidum*, agente de la sífilis.

Las bacterias pueden observarse sin tinción (examen en fresco) si se las coloca en glicerol o soluciones no acuosas que aumenten el índice de refracción o con tinción usando distintas coloraciones que mejoran su visualización ya que son células incoloras. Dichas tinciones se basan en la afinidad que presentan los colorantes por las estructuras bacterianas. Los colorantes catiónicos por ejemplo, son atraídos por los componentes de carga negativa como los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Ejemplo de este tipo son: el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina.

El examen en fresco no es el más usado para observar la morfología bacteriana porque las bacterias tienen citoplasma incoloro y su índice de refracción no difiere mucho del vidrio y del agua. Con esta técnica se puede verificar la existencia de bacterias y evidenciar su capacidad para moverse. El examen en fresco también puede ser usado con técnicas especiales como la tinción con tinta china que nos permite determinar la presencia de cápsula rodeando la bacteria. También puede usarse en el microscopio de campo oscuro por ejemplo para observar *Treponemas* o *Leptospiras* con su movimiento característico.

Las coloraciones que se usan para teñir los preparados de bacterias, se pueden dividir en: simples, diferenciales y especiales. Las primeras, por ejemplo el azul de metileno, nos permiten observar la existencia de bacterias, su morfología, su agrupación, la presencia de esporos y la existencia de otros tipos celulares. Las diferenciales (por ejemplo la coloración de Gram y la de Ziehl Nielsen) además de lo anterior, permiten la diferenciación de las bacterias porque usan diferentes colorantes que se comportan distinto según el microorganismo en cuestión. Las tinciones especiales se usan para objetivar distintas estructuras como la cápsula, el núcleo, los flagelos, los esporos, etc.

Antes de la coloración hay que realizar la preparación y la fijación del frotis. La preparación del frotis consiste en extender homogéneamente la muestra (por ejemplo un cultivo bacteriano) o una suspensión de la misma sobre una lámina. Una vez preparado el frotis debe secarse y fijarse (por ejemplo con calor).

Con la fijación del frotis se pretende obtener la muerte de los microorganismos, la adhesión a la lámina y la conservación de su morfología. Después de preparar y fijar el frotis, se puede realizar cualquier tipo de coloración (simple o diferencial).

La coloración de Gram es la más usada en bacteriología; debe su nombre a quién la describió en 1884. Es una coloración diferencial, dado que las bacterias pueden clasificarse según su respuesta en grampositivas o gramnegativas. Las primeras se tiñen de color azul violeta y las segundas adquieren un color rosado o rojo. La diferente reacción de las bacterias a la coloración de Gram se relaciona con diferencias fundamentales de la envoltura celular de estas dos clases de células.

En el cuadro 1 se muestran los colorantes usados, su tiempo de aplicación y la diferente coloración que adoptan las bacterias grampositivas y gramnegativas en cada paso de la coloración de Gram.

**Cuadro 1. Tinción de Gram**

Solución	Tiempo de aplicación	Bacterias grampositivas	Bacterias gramnegativas
Colorante: cristal violeta	30 s	Violeta	Violeta
Mordiente: lugol	1 min	Violeta	Violeta
Decolorante: alcohol acetona	10-15 min	Violeta	Incolora
Colorante de contraste: safranina	1 min	Violeta	Rosada

### Macroscópica

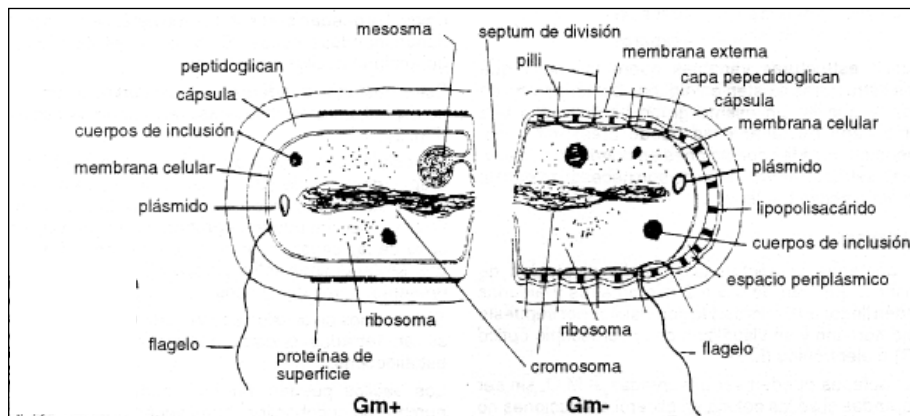
La mayoría de las bacterias se multiplican rápidamente y son visibles como colonias cuando se las siembra en medios de cultivo sólidos adecuados. Requieren una incubación de aproximadamente 24 horas en una atmósfera que favorezca su desarrollo, a temperatura óptima. Existen excepciones como *M. tuberculosis*, que requiere para su desarrollo de dos a ocho semanas de incubación.

Una colonia está constituida por los descendientes de una o unas pocas células. Las características de la colonia también dependen de la movilidad de la bacteria. El tamaño puede variar desde 0.5 mm (*Haemophilus* sp. o *N. gonorrhoeae*) a más grandes como las enterobacterias. La forma de la colonia puede ser circular (*Staphylococcus*), irregular o filamentosa (*Bacillus*). Los bordes pueden ser ondulados (característicos de los bacilos largos como *Bacillus anthracis*), en sierra o dentados (*Yersinia pestis*) o lisos (por ejemplo *Proteus vulgaris* o *Escherichia coli*). La superficie de la colonia también es orientadora y puede ser: plana, convexa, mamelonada, umbilicada (*S. pneumoniae*). En relación al pigmento que adquieren, éste puede ser: verde (*P. aeruginosa*), amarillo (*S. aureus*), grisáceo (*N. meningitidis*). También es diferente el comportamiento frente a la luz: brillante (*Streptococcus*) u opaca (*Staphylococcus*). Pueden presentar olores particulares como el frutal de *P. aeruginosa* o el putrefacto de los anaerobios. Por último hay que destacar la consistencia: mucoide (M), liso (S) o rugoso (R). Las colonias M tienen aspecto acuoso, brillante, propio de las bacterias capsuladas o que forman cubiertas polisacáridas como *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Los polímeros capsulares pueden ser específicos de grupo y son generalmente antigénicos. Entre las bacterias patógenas, las formas capsuladas suelen ser más virulentas. Por otra parte, las colonias S son de aspecto homogéneo, de textura uniforme y son características de microorganismos de tipo salvaje recientemente aislados de su hábitat natural como las enterobacterias. Las colonias R son de aspecto granulado, en general son cepas mutantes que carecen de proteínas o polisacáridos de superficie. Las formas R de enterobacterias, por ejemplo, generalmente no son virulentas, en oposición a la mayor resistencia de las bacterias procedentes de colonias S de tipo salvaje. Un cuarto tipo de colonia es la L y se asocia a la ausencia de la pared celular como resultado de la exposición a antibióticos; en general estas formas vuelven a sintetizar la pared celular una vez que el fármaco se extrae del medio.

## Estructura bacteriana

Las diferentes estructuras bacterianas que observamos (ver figura 2) las podemos dividir, según sean constantes en las células o no, en estructuras permanentes o variables. Dentro de las primeras se destaca: la pared celular, la membrana celular, los ribosomas y el material genético. Las estructuras variables son: los flagelos, las fimbrias o pilis, la cápsula y los esporos.

**Figura 2. Diagrama de la pared bacteriana.** Grampositiva a la derecha y gramnegativa a la izquierda



Estructuras variables, son aquellos que existen en algunas bacterias pero no en todas; un mismo grupo bacteriano o una misma cepa bacteriana las puede presentar o no, dependiendo de las condiciones en donde se desarrolle. Las estructuras variables no resultan esenciales para la vida de la bacteria.

Además podemos clasificar las estructuras bacterianas en internas o citoplásmicas y externas o de la envoltura celular. Dentro de las internas destacamos el material genético, los ribosomas y los cuerpos de inclusión. La envoltura celular engloba la membrana plasmática, la pared celular que la recubre, la cápsula y los apéndices como fimbrias o pilis y flagelos. Contiene los sitios de transporte para nutrientes, interviene en la relación huésped parásito, es blanco de las reacciones del sistema inmune y puede contener estructuras tóxicas para el huésped.

### **ESTRUCTURAS INTERNAS O CITOPLASMÁTICAS**

Están inmersas en el citoplasma, solución acuosa y viscosa que contiene solutos orgánicos e inorgánicos y elementos especializados como los ribosomas y los cuerpos de inclusión.

#### **Material genético**

##### **Ácido desoxirribonucleico cromosómico**

El ADN tanto procariota como eucariota se compone de dos cadenas helicoidales de nucleótidos de purina y de pirimidina, unidos entre sí por enlaces de hidrógeno, formando una doble hélice según el modelo de Watson y Crick.

Las bacterias no poseen membrana nuclear, nucléolo ni aparato mitótico y nunca configuran una masa cromosómica definida. Esto las diferencia de las células eucariotas. Aunque no existe un núcleo delimitado, hay una zona nuclear o nucleóide.

Su material genético está constituido por una molécula de ADN circular enrollado sobre sí mismo, asociado a proteínas básicas que no constituyen verdaderas histonas.

##### **Plásmidos**

Constituyen el material genético extracromosómico. Están constituidos por secuencias cortas de ADN circular bicatenario, que pueden existir y replicarse independientemente del ADN cromosómico y son heredados por las células hijas. Aunque no son esenciales para la vida de la bacteria, generalmente proveen a ésta una ventaja selectiva, por ejemplo: resistencia a los antibióticos, nuevas capacidades metabólicas, patogénicas (cuando codifican para factores de virulencia como toxinas, etc.) u otras numerosas propiedades. Pueden transferirse de bacteria a bacteria mediante un proceso denominado conjugación.

##### **Ribosomas**

Libres en el citoplasma, están compuestos por proteínas y ácido ribonucleico (ARN); su coeficiente de sedimentación es de 70S (a diferencia de la célula eucariota que es de 80S) con dos subunidades de 50S y de 30S. Pueden presentarse aislados o como polirribosomas, asociados a ARN mensajero (ARNm) y a ADN cromosómico. Un mismo ARNm puede ser traducido por varios ribosomas simultáneamente durante la síntesis proteica. Los ARNm bacterianos difieren en el número de proteínas para las que codifican. Algunos representan un único gen (monocistrónicos), otros, la mayoría, tienen secuencias que codifican para más de una proteína (policistrónicos).

Su función es la síntesis proteica y su cantidad aumenta cuando la bacteria crece en medios

ricos. Su alto contenido de sustancias ácidas los hace sensibles a la tinción con colorantes positivos o básicos como el cristal violeta y el azul de metileno.

### **Cuerpos de inclusión**

Son gránulos de material orgánico o inorgánico, algunas veces rodeados de membrana. En general funcionan como almacenamiento de compuestos energéticos que son usados como fuente de energía (polisacáridos, lípidos, polifosfatos). El glucógeno constituye el principal elemento almacenado por las enterobacterias (40% de su peso). Algunas pseudomonas acumulan carbono como ácido poli- $\alpha$ -hidroxibutirato y las micobacterias contienen gránulos de polifosfato. Con frecuencia las inclusiones pueden verse directamente con el microscopio de luz sin tinciones especiales.

## **ESTRUCTURAS EXTERNAS O DE LA ENVOLTURA CELULAR**

### **Membrana celular**

Es una estructura vital para la bacteria. Representa una barrera que separa el interior del exterior celular.

Consiste en una bicapa lipídica similar a otras membranas biológicas, compuesta por fosfolípidos anfipáticos; no posee esteroides a diferencia de las eucariotas (con la excepción de los mycoplasmas). La membrana se halla estabilizada por puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y cationes como el calcio y el magnesio que se combinan con los fosfolípidos cargados negativamente. Insertas en ella se encuentran múltiples proteínas transmembrana, que facilitan el transporte de sustancias hidrofílicas a través de ésta. Como las bacterias no poseen membranas internas todos los sistemas de fosforilación, oxidación y transporte de electrones (citocromos) para la producción de energía se encuentran a nivel de la membrana celular.

Los mesosomas son invaginaciones de la membrana plasmática que forma vesículas, túbulos o lamelas. Aunque se han investigado durante años, su función exacta aún se desconoce; pueden estar involucrados en la formación de la pared celular durante la división celular o en la replicación del cromosoma y su distribución a las células hijas. Algunos autores consideran que los mesosomas son artefactos generados durante la fijación química de las bacterias para su observación en el microscopio electrónico. Es necesario realizar más investigaciones para solucionar esta polémica.

La membrana celular cumple la función de barrera osmótica, tiene permeabilidad selectiva y permite el ingreso de nutrientes y la salida de desechos por mecanismos de transporte activo y pasivo. En ella se encuentran los sistemas de fosforilación oxidación y el transporte de electrones para la producción de energía; además tiene las enzimas necesarias para la síntesis de lípidos, de la pared celular (por ejemplo, el bactoprenol), de la cápsula, etc. Finalmente la membrana contiene moléculas receptoras especiales que ayudan a las bacterias a detectar y responder a sustancias químicas del medio externo.

### **Pared celular**

Ubicada por fuera de la membrana plasmática, es una estructura vital para las bacterias que la poseen. Los fármacos que bloquean su formación producen la lisis y muerte de las bacterias susceptibles. Excepto los mycoplasmas todas las bacterias tienen una pared celular que les da forma y las protege de la lisis osmótica. La pared celular de muchos microorganismos patógenos tiene componentes que contribuyen a su patogenicidad. La pared puede proteger a la célula de las sustancias tóxicas y es el sitio de acción de algunos antibióticos.

Después de que Christian Gram en 1884 desarrollase la tinción que lleva su nombre, se

comprobó que las bacterias podían clasificarse en dos grupos principales, según su respuesta a esta coloración. Las bacterias grampositivas se tiñen de color azul violeta y las gramnegativas adquieren un color rosa o rojo. La diferencia estructural verdadera entre ambos grupos se puso de manifiesto con el desarrollo del microscopio electrónico. La pared de una célula grampositiva está formada por una única capa homogénea de 20 a 80 nm de grosor de peptidoglicano o mureína, situada por fuera de la membrana celular. Por el contrario, la pared de la célula gramnegativa es más compleja; posee una capa de 2 a 7 nm de grosor de peptidoglicano rodeada por una membrana externa.

En las microfotografías electrónicas se observa un espacio entre la membrana plasmática y la externa de las bacterias gramnegativas y, a menudo entre la membrana plasmática y la pared celular en las grampositivas. Dicho espacio se denomina espacio periplásmico y está ocupado por un gel, el periplasma. El espacio periplásmico de las bacterias gramnegativas contiene muchas proteínas que participan en la captación de nutrientes, por ejemplo enzimas hidrolíticas (proteasas, lipasas, fosfatasas,  $\beta$ -lactamasas) que convierten las macromoléculas en productos más pequeños que pueden ser metabolizados por la bacteria. El espacio periplásmico contiene también enzimas que participan en la síntesis del peptidoglicano y en la modificación de compuestos tóxicos que podrían lesionar la célula. En especies patógenas, también encontramos a ese nivel factores de virulencia como colagenasas, hialuronidasas y proteasas. Es posible que las bacterias grampositivas no tengan un espacio periplásmico visible y secretan enzimas denominadas exoenzimas, que corresponderían a las periplásmicas de las bacterias gramnegativas.

El peptidoglicano o mureína es un gran polímero compuesto por muchas subunidades idénticas. (Ver figuras 3 Y 4). El polímero contiene dos aminoazúcares: N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico; unidos entre sí en la posición  $\beta$ 1-4. El esqueleto de este polímero está formado por residuos alternantes de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Una cadena peptídica de cuatro aminoácidos D- y L- alternantes está conectada a un grupo carboxilo del ácido N-acetilmurámico. Los tetrapéptidos de una y otra cadena de peptidoglicano se unen entre sí por puentes peptídicos.

Existen diferencias en el espesor de esta capa de peptidoglicano. Las bacterias grampositivas tienen una capa gruesa de 0,02 a 0,06  $\mu$ m en forma de capas múltiples, mientras que las bacterias gramnegativas y las ácido alcohol resistentes tienen una capa fina de peptidoglicano, de 0,01  $\mu$ m aproximadamente.

En el momento de la división celular se debe formar una nueva pared celular. En la pared de la célula en división, enzimas producidas por la misma bacteria (autolisinas), forman como brechas en la "vieja pared". (Ver figura 5). Es en esas brechas o aberturas donde se agrega el peptidoglicano de la nueva pared en formación.

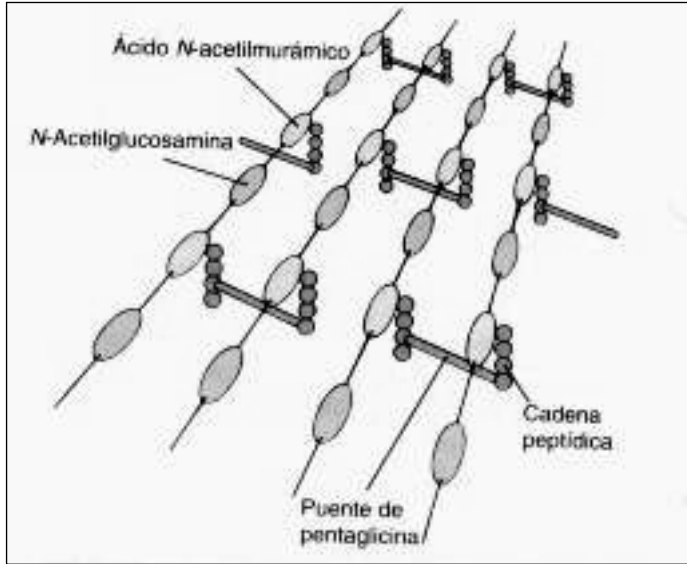
A nivel del citoplasma, se forma un precursor o unidad monomérica con uridin-difosfato ácido N-acetilmurámico (UDP-N-AcM). Los aminoácidos son adheridos secuencialmente al UDP-N-AcM hasta formar una cadena de pentapéptidos con dos D-alanina terminales.

La segunda etapa en la síntesis de la pared celular se produce en la membrana plasmática, donde se encuentra el transportador lipídico: bactoprenol. El pentapéptido N-acetilmurámico se transfiere desde el UDP al bactoprenol y luego una molécula de N-acetilglucosamina se une al complejo pentapéptido N-AcM a través de este último. El bactoprenol transporta el bloque formado a través de la membrana plasmática.

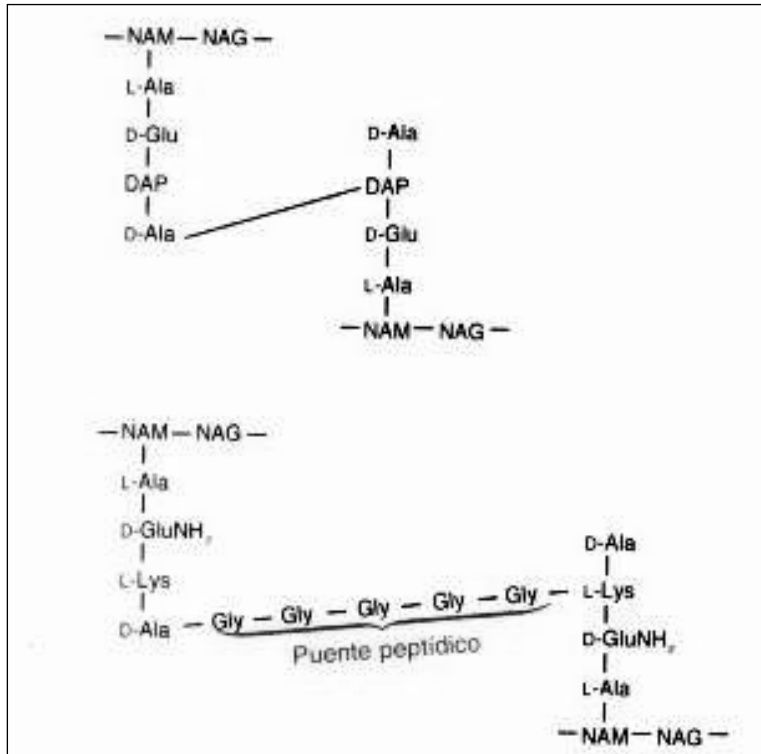
Cuando llega al espacio periplásmico estos bloques de disacáridos son colocados en las brechas ya formadas y unas enzimas denominadas ligasas unen los monómeros a una cadena de peptidoglicano en crecimiento. El paso final y fundamental para una correcta función de



**Figura 3. Estructura del peptidoglicano.** Diagrama esquemático de un segmento de peptidoglicano que muestra las cadenas de polisacáridos, cadenas laterales tetrapeptídicas y puentes peptídicos

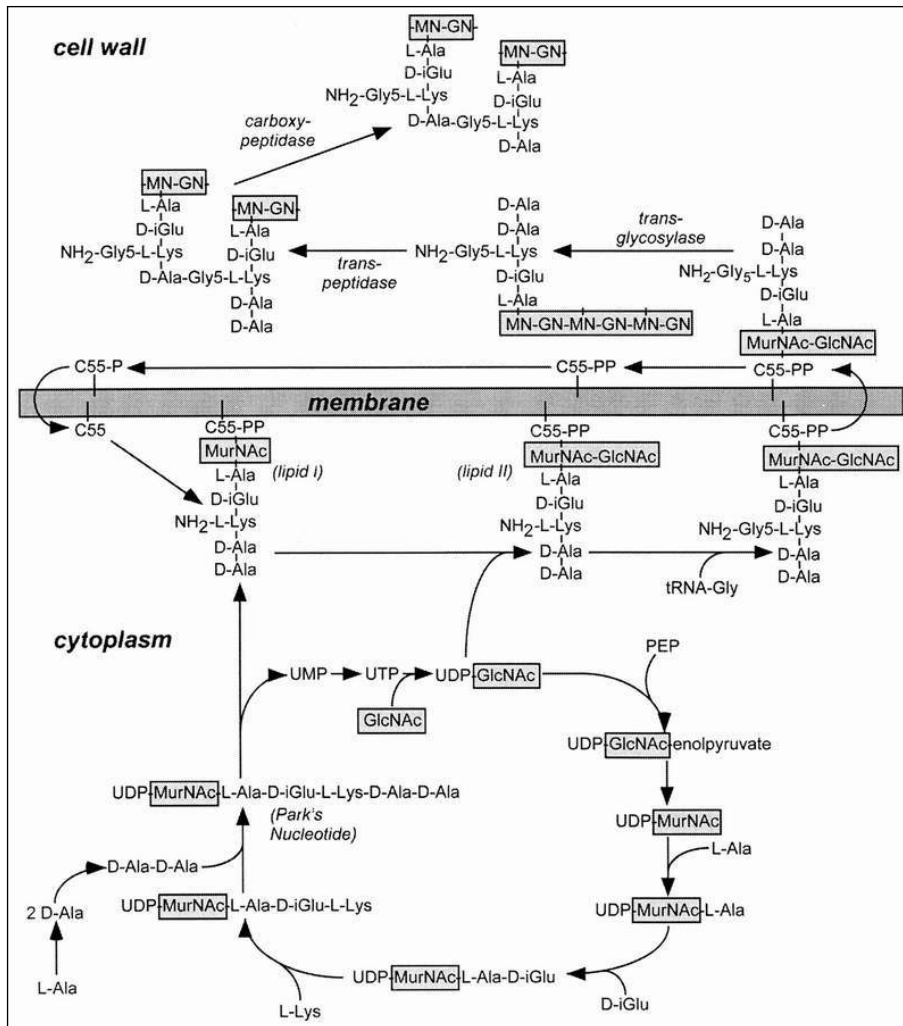


**Figura 4. Entrecruzamientos en el peptidoglicano.** Arriba: peptidoglicano de *E. coli* con enlace directo, típico de muchas bacterias gramnegativas. Abajo: peptidoglicano de *S. aureus*. NAM: N-acetilmurámico; NAG: N-acetilglucosamina; Gly: glicina



la pared es la unión de las cadenas de peptidoglicano entre sí. Dicho paso se conoce como transpeptidación y consiste en la unión de cadenas peptídicas adyacentes, mediante la formación de una unión peptídica entre una D-alanina de una cadena y una L-lisina o ácido diaminopimérico (DAP) de otra cadena. Esta reacción de entrecruzamiento se hace con la participación de transpeptidasas también denominadas penicilin binding proteins (PBP), ya que son el sitio blanco de acción de la penicilina y otros antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Éstos se unen a las PBP impidiendo la transpeptidación, provocando la lisis osmótica de las bacterias. Esto se produciría aparentemente por la semejanza estructural entre la penicilina y el dímero D-ala-ala reconocido por las PBP que hace que en presencia de penicilina, las PBP se “confundan” y elaboren un complejo penicilina-enzima que resulta letal para la bacteria (en lugar del complejo D-ala-enzima).

**Figura 5. Diagrama de la biosíntesis del peptidoglicano.** PEP, fosfoenolpiruvato; MurNAc y MN, ácido N-acetilmurámico; GlcNAc y GN, N-acetilglucosamina; C55, bactoprenol.



### **Estructura de la pared celular de las bacterias grampositivas**

La gruesa pared celular de las bacterias grampositivas está constituida principalmente por peptidoglicano. Se cree que ésta gruesa capa de peptidoglicano es la determinante de que estas bacterias retengan el cristal violeta de la coloración de Gram.

Sin embargo, estas células contienen también una gran cantidad de ácido teicoico: polisacáridos que se unen al ácido N-acetilmurámico o a los lípidos de la membrana plasmática. En este último caso se denomina ácido lipoteicoico. Tanto los ácidos teicoicos como los lipoteicoicos, tienen la función de estabilizar la pared celular. Además los ácidos teicoicos tienen un rol en la virulencia de estos microorganismos, porque actúan como antígenos de superficie que se unen a receptores específicos en las células del huésped.

La superficie externa del peptidoglicano de las bacterias grampositivas está generalmente cubierta de proteínas. Los diferentes grupos de bacterias grampositivas y las diferentes especies difieren en la composición de sus proteínas y de ácidos teicoicos; ésto es útil para la clasificación serológica y la identificación bacteriana.

### **Estructura de la pared celular de las bacterias gramnegativas**

Si observamos la pared de las bacterias gramnegativas al microscopio electrónico podemos observar tres zonas: la membrana plasmática, el espacio periplásmico que incluye una fina capa de peptidoglicano y la membrana externa. Esta última, exclusiva de las bacterias gramnegativas, es una bicapa lipídica que difiere de otras membranas por su capa externa, que está constituida por una molécula anfipática: el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina. Además del LPS, la membrana externa contiene fosfolípidos y proteínas que la unen al peptidoglicano.

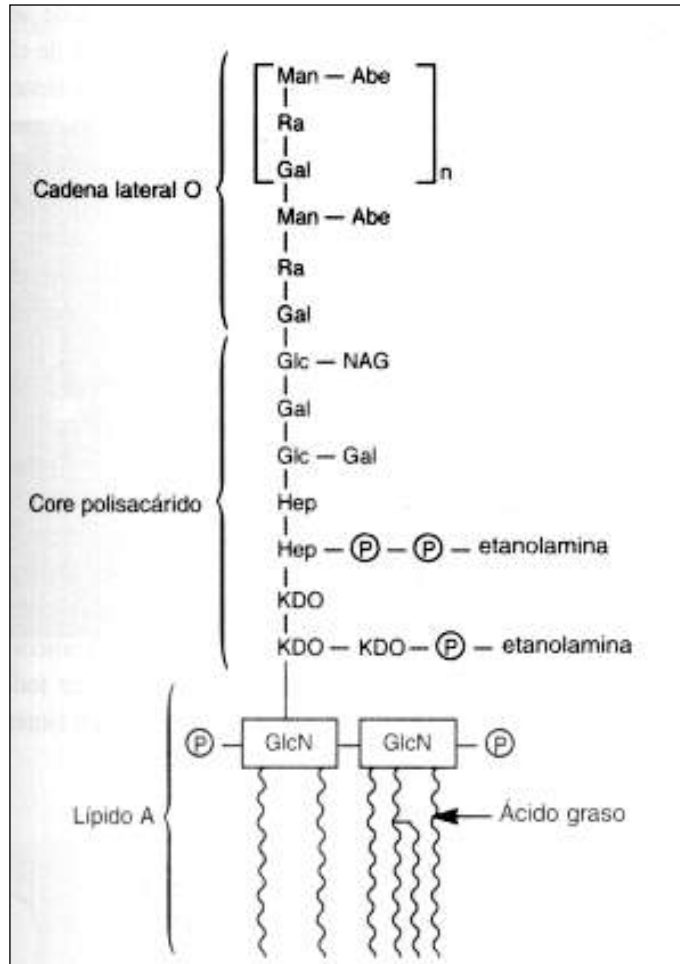
El LPS está constituido por tres partes: el lípido A, el polisacárido central o del core y la cadena lateral O. (Ver figura 6). La región del lípido A está inmersa en la membrana externa y el resto de la molécula del LPS sobresale de la superficie celular. El core o polisacárido central está unido al lípido A. La cadena O u antígeno O, consiste en unidades repetidas de una subunidad tetrasacárida y es muy variable en su composición entre las diferentes familias, especies y aún dentro de la misma especie de bacterias gramnegativas; en cambio, el polisacárido del core es constante para un mismo género bacteriano. El polisacárido O por su variabilidad es usado frecuentemente para la clasificación serológica de las bacterias.

La mayoría de las bacterias sintetizan moléculas de LPS con un antígeno O de longitud completa, algunas especies fabrican moléculas cortas de antígeno O y otras casi no lo sintetizan. Las formas con poco o ningún antígeno O se conocen como rugosas, en oposición a las formas lisas productoras de antígeno O de tamaño completo. Macroscópicamente se observan como colonias de bordes rugosos (LPS truncado) o colonias lisas (LPS completo).

Una de las funciones más importantes de la membrana externa es servir como barrera protectora. Evita o disminuye la entrada de sales biliares, antibióticos y otras sustancias tóxicas que podrían destruir o lesionar la bacteria. La membrana externa es más permeable que la plasmática y permite el pasaje de pequeñas moléculas como glucosa y otros monosacáridos. Dicho pasaje se debe a la presencia de porinas, proteínas integrales o transmembrana que forman canales estrechos por los cuales pasar moléculas menores de 600 a 700 dalton. Moléculas mayores como la vitamina B12 pueden atravesar la membrana externa por transportadores específicos. Esta membrana externa previene la pérdida de constituyentes como las enzimas periplásmicas.

En la figura 7 se esquematiza la estructura de la envoltura de una bacteria grampositiva y de una gramnegativa.

**Figura 6. Estructura del LPS de Salmonella.** Abe, abecucosa; Gal, galactosa; Glc, glucosa; GlcN, glucosamina; Hep, heptulosa; KDO, 2-ceto-3-desoxioktonato; Man, manosa; NAG, N-acetilglucosamina; P, fosfato; Ra, L-ramnosa.



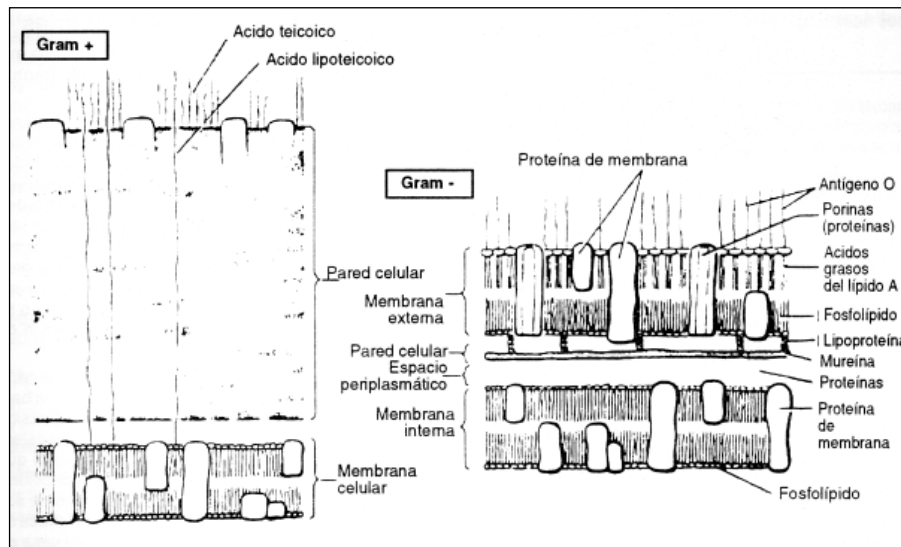
#### Fundamento de la coloración de Gram

Es probable que la diferencia entre las bacterias grampositivas y gramnegativas se deba a la naturaleza física de sus paredes celulares. El peptidoglicano no se tiñe por sí mismo, más bien parece actuar como barrera de permeabilidad para evitar la pérdida de cristal violeta. Durante el proceso de coloración las bacterias se tiñen primero con cristal violeta y luego se tratan con yoduro para favorecer la retención del colorante. En la decoloración con etanol, se cree que el alcohol contrae los poros de la capa gruesa de peptidoglicano y se retiene el complejo colorante yoduro; así las bacterias adquieren color violeta. Por el contrario, la capa de peptidoglicano de las bacterias gramnegativas es muy fina, con menos enlaces y con poros de mayor tamaño. Además, es posible que el tratamiento con alcohol extraiga suficientes lípidos de la membrana externa como para aumentar su porosidad. Por estos motivos el alcohol elimina más fácilmente el complejo cristal violeta yoduro en las bacterias gramnegativas.

#### Funciones de la pared celular

Otorga rigidez y da forma a las bacterias y las protege de la lisis osmótica. Su importancia clínica deriva de su susceptibilidad a la acción de los antibióticos, dado que éstos actúan

**Figura 7. La estructura de envoltura de un microorganismo grampositivo (izquierda) y un microorganismo gramnegativo (derecha).** No se muestran las cápsulas y los apéndices ni las proteínas de superficie, como la proteína M de los estreptococos. Obsérvese la cantidad 20 veces mayor peptidoglicano en el microorganismo grampositivo. La membrana externa de la envoltura del microorganismo gramnegativo muestra moléculas de polisacáridos del antígeno O cubriendo la capa externa



sobre un blanco que no es propio del hombre y que es vital para la vida bacteriana (poseen toxicidad selectiva). También actúa como filtro, impidiendo el ingreso de algunas moléculas y permitiendo la entrada de metabolitos imprescindibles y agua. Contiene determinantes patogénicos, como el lípido A del LPS y estructuras antigénicas que sirven para identificar y clasificar a la bacteria (antígeno O de las enterobacterias o polisacárido C del *Streptococcus* sp.). Podríamos decir entonces, que la pared bacteriana es un gran mosaico de antígenos que son usados en la clasificación y en la identificación bacteriana.

También antígenos de la pared celular (antígeno O del LPS y proteínas de la membrana externa), han sido ensayados como inmunógenos en la producción de vacunas; por ejemplo la vacuna antimeningocócica para el grupo B. La porción central del LPS o core, que es invariable entre las diferentes bacterias y no es tóxica, también se ha ensayado como inmunógeno.

#### **Principales efectos del lipopolisacárido o endotoxina**

El LPS es termoestable, resistente incluso a la esterilización con autoclave. Su actividad endotóxica se asocia al componente lipídico A, liberado cuando la célula se lisa como consecuencia de la fagocitosis o de la acción antibiótica (de ahí el nombre de endotoxina). Hoy se sabe que la gravedad del cuadro clínico depende de la cantidad de endotoxina circulante, pudiendo determinar desde un simple cuadro infeccioso con fiebre hasta sepsis, falla multiorgánica y muerte.

Pequeñas cantidades de endotoxina provocan reacciones de alarma: fiebre, activación del complemento por la vía alternativa, activación de los macrófagos y estimulación de linfocitos B. En grandes dosis produce shock e incluso la muerte.

Cuatro tipos de células constituyen el blanco primario de la endotoxina: los fagocitos

mononucleares (macrófagos del bazo, de la médula ósea, de los alvéolos pulmonares y de la cavidad peritoneal, monocitos de la sangre periférica y células de Kupffer), los neutrófilos, las plaquetas y los linfocitos B. Es probable que éstas células tengan receptores de endotoxina específicos.

La endotoxina también actúa como pirógeno, por lo tanto causa fiebre cuando se acumula suficiente cantidad de bacterias gramnegativas en los tejidos como para hacer contacto con la circulación. La fiebre se produce porque la endotoxina induce la liberación de ciertas proteínas conocidas como pirógenos endógenos desde los fagocitos mononucleares. Los mejor conocidos son la interleuquina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Las bacterias grampositivas también inducen fiebre, pero como carecen de endotoxina, son los componentes de la pared celular los que causan liberación de la IL-1 y del TNF.

La endotoxina activa el complemento por la vía alternativa. Esto trae como consecuencia la producción del complejo de ataque a la membrana, la quimiotaxis de los fagocitos (C5a fundamentalmente) y la opsonización (C3b). La activación del complemento conduce también a un aumento de la permeabilidad vascular (mediado por las anafilotoxinas C3a y C5a) y a la liberación de enzimas lisosómicas desde los neutrófilos (desgranulación). Todos estos efectos producen la respuesta inflamatoria.

La endotoxina activa los macrófagos, es decir los estimula para que aumenten la producción de enzimas lisosómicas, aceleren la velocidad de la fagocitosis y secreten algunas hidrolasas hacia el medio. La acción de los macrófagos activados incluye la destrucción de ciertas células cancerosas, por lo que el estudio de los derivados de endotoxina como potenciales agentes antitumorales es un tema de muchas investigaciones.

Cuando se libera la IL-1, la endotoxina induce la división de los linfocitos B. Estos maduran a células productoras de anticuerpos y aumentan la resistencia a las infecciones por aumento del nivel de anticuerpos.

Cuando se administran grandes cantidades de endotoxina, se produce un shock endotóxico, con frecuencia letal, que se manifiesta por caída severa de la presión arterial y un fenómeno denominado coagulación intravascular diseminada (CID), entre otros. El CID es el resultado del depósito de trombos en los vasos de pequeño calibre, con el consiguiente daño en las áreas privadas de irrigación sanguínea; el consumo de plaquetas, así como de factores de la coagulación (II, V y VII) excede la velocidad de producción la que conduce a hemorragias internas y falla orgánica (fundamentalmente en pulmón, riñón e hígado). La endotoxina contribuye a la coagulación de la sangre de tres formas: activa el factor de Hageman o factor XII de la coagulación, quien activa la vía intrínseca de la coagulación; provoca la liberación de gránulos de las plaquetas que están involucrados en la coagulación y provoca la liberación de proteínas básicas de los neutrófilos que estabilizan los coágulos de fibrina.

Hoy se cree que los mediadores claves de la hipotensión inducida por la endotoxina son el TNF y la IL-1. Un punto de vista previo sostiene que la caída de la resistencia de los vasos periféricos se debe a la acumulación de aminas vasoactivas (histamina y quinina).

Las bacterias grampositivas no poseen endotoxina, pero pueden producir un cuadro similar al del shock endotóxico de las bacterias gramnegativas. Las mismas citoquinas que se liberan ante la presencia del LPS, son liberadas ante la presencia de la pared de las bacterias grampositivas, produciendo los mismos efectos. A la luz de las investigaciones actuales, los fragmentos de peptidoglicano y de ácidos teicoicos, juegan un papel semejante al del LPS. Si se inyectan a animales tienen efectos similares a los producidos por la endotoxina de los microorganismos gramnegativos.

### Estructura de la pared celular de las bacterias ácido-alcohol resistentes

Nos referiremos como modelo de este grupo al género *Mycobacterium*. Además del peptidoglicano, la pared celular de las micobacterias tiene muchos glicolípidos como el complejo lipídico arabinogalactano y los ácidos micólicos, éstos últimos solo son encontrados en las *Mycobacterium* y las *Corynebacterium* spp. Esta gran cantidad de lípidos hace que las bacterias ácido alcohol resistentes no se tiñan o lo hagan mal con la coloración de Gram. Para teñirla, se recurre a coloraciones con fucsina (colorante rojo), con calentamiento del colorante y luego de este procedimiento resisten la decoloración de una mezcla de alcohol y ácido, que constituye la tinción de Ziehl Nielsen. Esta gran cantidad de lípidos de la pared, 10% del total del peso de la micobacteria, la protege de la acción deletérea de los componentes del fagolisoma y, probablemente, sea la razón por la que las micobacterias pueden sobrevivir dentro de los macrófagos. Los componentes de la pared de las micobacterias también tienen la capacidad de estimular al sistema inmune, tanto es así que se usa para aumentar la producción de anticuerpos cuando se inyecta antígenos proteicos, o sea, se usa como adyuvante. El adyuvante de Freund tiene como componente básico pared de micobacterias.

De todo lo expuesto se desprende la importancia del conocimiento de las diferentes paredes celulares de las bacterias (grampositivas, gramnegativas y ácido alcohol resistentes) a la hora de estudiar mecanismos de agresión, sensibilidad a los antibióticos, taxonomía, clasificación bacteriana, identificación, etc.

### Cápsula

Cuando existe está ubicada por fuera de la pared celular. Las bacterias producen material capsular que, cuando se asocia íntimamente a la superficie celular recibe el nombre de cápsula. Si su adherencia es débil y de grosor variable, se conoce como limo.

Generalmente es de naturaleza polisacárida (a excepción de la cápsula del *Bacillus anthracis* que es peptídica).

No es una estructura vital para la célula, su pérdida no se relaciona con la pérdida de viabilidad celular, pero sí con cambios de la morfología colonial y con la pérdida de la virulencia bacteriana.

La virulencia de algunos patógenos se correlaciona con la presencia de cápsula, como por ejemplo: *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo b. La cápsula protege a la bacteria de la fagocitosis, principal mecanismo de defensa que pone en juego el huésped ante la presencia de bacterias capsuladas. Una respuesta efectiva para defenderse de este tipo de bacterias implica la producción de anticuerpos que se unan específicamente a la cápsula facilitando la opsonización y la fagocitosis.

De su capacidad antigénica se desprende el uso de la cápsula para la producción de diferentes vacunas que estimulan la formación de anticuerpos específicos. Ejemplos de ellas son las vacunas: anti neumocócica, anti *Haemophilus influenzae* tipo b y anti meningocócica A, B y C.

Las bacterias que producen cápsula forman en los medios sólidos colonias acuosas, mucoide (M) o lisas (S), en cambio, las cepas rugosas (R) no producen cápsula. La pérdida de la capacidad de formar cápsula por mutación S a R se correlaciona con la pérdida de la virulencia y el aumento de la susceptibilidad a la destrucción por los fagocitos; aunque no afecta la viabilidad. Muchas cepas bacterianas producen cápsula o limo cuando son aisladas en cultivo por primera vez a partir de un huésped. Con los reaislamientos sucesivos, dejan de producirla, lo que indicaría que la presencia de la cápsula no ofrece ventaja selectiva in

vitro. Su producción está regulada genéticamente, de forma que las bacterias la presentan cuando es necesaria para la supervivencia dentro del huésped.

La presencia de cápsulas también se puede demostrar por tinción negativa con tinta china. La tinta china no penetra la cápsula pero delimita un contorno refringente alrededor del cuerpo bacteriano en un fondo oscuro.

Los antígenos capsulares son muy útiles en la clasificación e identificación de diferentes bacterias, por ejemplo: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, etc.

### Fimbrias o pilis

Son estructuras filamentosas, proteicas, que se diferencian de los flagelos por su diámetro (menor a 8 nm) y por no poseer estructura helicoidal; no cumplen funciones de movilidad. Son estructuras variables, no vitales para las bacterias que las poseen.

Los pili comunes cumplen funciones de adherencia a receptores específicos y superficiales, esto es importante en las especies de relevancia clínica porque median la adherencia de muchas bacterias a determinados epitelios, jugando un papel fundamental en la colonización. Por ejemplo, las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* patógenas son aquellas que poseen fimbrias que se adhieren específicamente al epitelio uretral del hombre o al epitelio del cérvix uterino de la mujer. Las cepas de *E. coli* capaces de causar infección urinaria tienen fimbrias que les permiten adherirse específicamente al epitelio del aparato urinario. También la *E. coli* enteropatógena (EPEC) tiene fimbrias que le permiten adherirse al epitelio intestinal para luego producir los cambios que determinarán la diarrea.

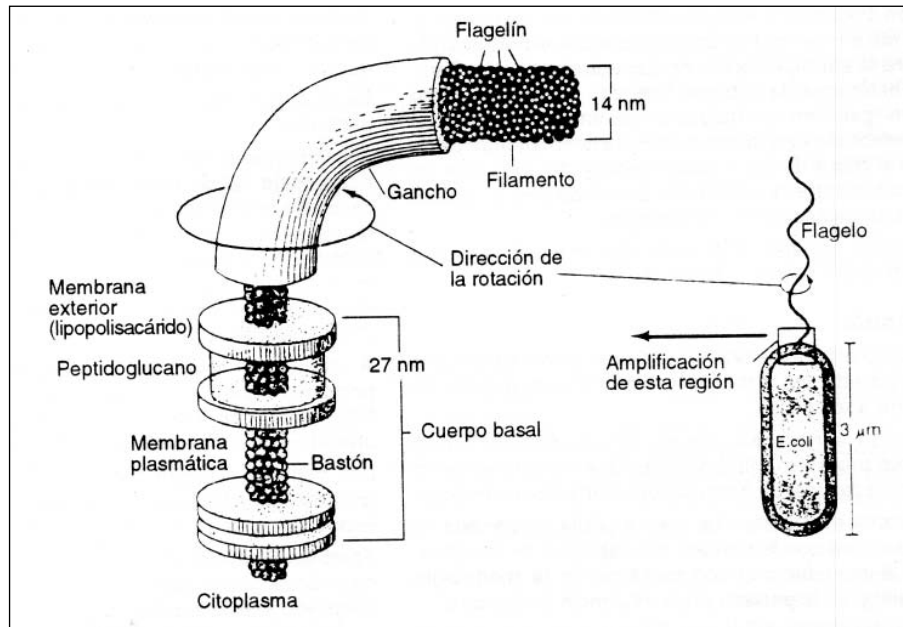
Existen otras estructuras llamadas pilis sexuales que son más largas y poca cantidad (dos o tres por célula). Estos intervienen en el intercambio genético entre bacterias, de allí su nombre. El apareamiento de dos bacterias y la transferencia de ADN a través del pili sexual se conoce como conjugación. Se transfiere material genético de una célula donadora (que posee un plásmido F que codifica el pili sexual, entre otras cosas) a una receptora. En general el material transferido es un plásmido o una porción de cromosoma movilizada por un plásmido. Una vez unidas las bacterias los pilis sexuales se retraen, permitiendo que las células se unan y pase el ADN de la donadora a la receptora, formándose una verdadera unión (puente) entre las membranas de las células para el pasaje del ADN. La célula receptora está estrechamente emparentada con la donadora y posee un receptor específico para los pilis sexuales.

### Flagelos y filamentos axiales

Los flagelos son filamentos proteicos, helicoidales, delgados y rígidos, de longitud y diámetro uniforme, responsables de la movilidad de la bacteria. Los flagelos son tan delgados que no pueden observarse directamente con un microscopio de campo claro, deben teñirse con técnicas especiales para aumentar su grosor. La estructura detallada de un flagelo puede verse solo con el microscopio electrónico; así es que se ha demostrado que el flagelo bacteriano está compuesto de tres partes: el filamento, el gancho y el cuerpo basal. El primero sobresale de la superficie de la bacteria y se une a ese nivel con el gancho, que está fijo al cuerpo basal. Éste último está anclado en la membrana plasmática y está compuesto por un cilindro y dos o más juegos de anillos contiguos a la membrana plasmática, el peptidoglicano y, en las bacterias gramnegativas, a la membrana externa (ver figura 8).

El filamento tiene forma de hélice rígida y la bacteria se mueve cuando ésta gira, como las hélices de un barco. La dirección de la rotación flagelar determina la naturaleza del movimiento bacteriano: la rotación de los flagelos en dirección contraria a las agujas del reloj



**Figura 8.** Esquema comparativo de la estructura del flagelo en gramnegativas

permite el movimiento de avance, mientras que la rotación en el sentido de las agujas del reloj hace que las células den vueltas.

Los flagelos pueden variar en número, desde uno a cientos. Las especies bacterianas difieren por sus modelos de distribución de flagelos. Las monotricas (trichous: pelo) tienen un solo flagelo que si se sitúa en un extremo de la bacteria y se denomina polar. Las bacterias anfítricas (amphi: en ambos lados) tienen un flagelo en cada polo bacteriano. En cambio, las lofotricas (lopho: mechón) poseen un grupo o penacho de flagelos en uno o ambos extremos. Por último, en las bacterias peritricas (peri: alrededor), los flagelos se distribuyen uniformemente en toda la superficie bacteriana. Los modelos de distribución de los flagelos son útiles para identificar a las bacterias.

Los flagelos no son necesarios para la vida bacteriana. Su síntesis está regulada por las necesidades nutricionales o el estado energético y ocurre por la adición de monómeros de flagelina al extremo distal de los flagelos en crecimiento. La síntesis del filamento es un ejemplo excelente de autoensamblaje, es decir que la información necesaria para construir el filamento está en la propia estructura de la subunidad de flagelina; no colaboran enzimas especiales u otros factores. Las bacterias flageladas pueden buscar nutrientes o evitar los tóxicos siguiendo los gradientes; la función flagelar se debe a respuestas quimiotácticas y la energía para el movimiento proviene de una corriente de protones.

La movilidad y, por lo tanto, la presencia de flagelos, constituye un factor de virulencia.

El antígeno flagelar recibe el nombre de antígeno H. Las bacterias flageladas reaccionan con antisueros específicos para flagelos, provocando una aglutinación típica.

Las espiroquetas (*Treponemas*, *Leptospiras* y *Borrelias*) se mueven en onda helicoidal; dicho movimiento les permite penetrar en medios viscosos. Estas bacterias tienen filamentos axiales que no se extienden de un polo a otro de la célula, sino que se originan en polos opuestos y se superponen en el centro de la célula, sin presentar conexiones entre sí.

### ESPOROS

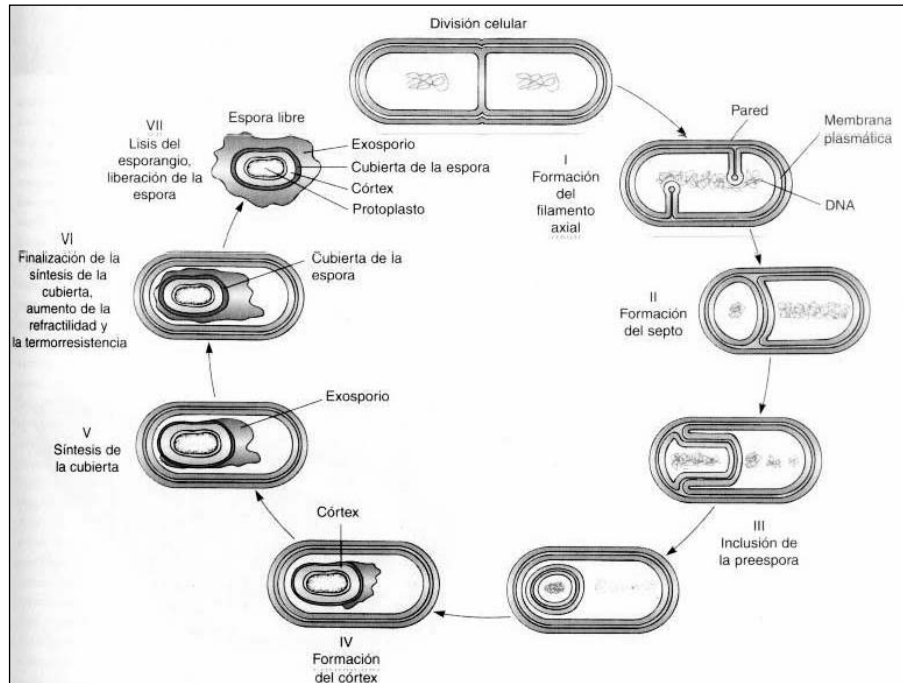
Algunas bacterias grampositivas pueden formar una estructura especial inactiva de resistencia, denominada endospora o spora. Se desarrollan dentro de células bacterianas vegetativas (por eso la denominación de endospora) de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* entre otros. Estas estructuras son resistentes a situaciones vitales estresantes como el calor, la desecación, la radiación ultravioleta, los ácidos y los desinfectantes químicos. Debido a su resistencia y al hecho de que varias especies de bacterias formadoras de esporas son agentes patógenos peligrosos, las esporas tienen gran importancia en microbiología alimentaria, industrial y médica. El conocimiento de estas formas altamente resistentes al calor (pueden sobrevivir a la cocción durante una o más horas) fue esencial para el desarrollo de métodos adecuados de esterilización para medicamentos, alimentos, medios de cultivo microbiológicos, etc. En el ambiente las endosporas permiten la supervivencia de las bacterias cuando la humedad o los nutrientes son escasos.

Se pueden observar con el microscopio óptico y electrónico. Como las esporas son impermeables a la mayoría de los colorantes, se observan como áreas incoloras dentro de las células coloreadas. Existen además coloraciones especiales para teñir los esporos. La situación de la spora en la célula madre o esporangio, es característica para una especie bacteriana determinada, siendo esto importante para la identificación de la bacteria. Las esporas pueden estar en el centro de la bacteria (*C. perfringens*), próxima a un extremo o subterminal (*C. botulinum*) o en el extremo, terminales (*C. tetani*). A veces la spora es tan grande que deforma el esporangio (*C. botulinum*).

Dentro de una célula vegetativa se produce una spora única, que se diferencia de la célula madre en su morfología y composición, en el aumento de la resistencia a los ambientes adversos y en la ausencia de actividad metabólica evidente. El proceso incluye la formación de numerosas cubiertas y la captación de calcio con síntesis de ácido dipicolínico. Al final de la esporulación queda una partícula deshidratada que contiene ADN genómico. Ese ADN se vuelve resistente a la desecación, al calor extremo, a la radiación y al ataque por la mayoría de las enzimas y agentes químicos. Pueden permanecer en esta forma por años o convertirse nuevamente en la forma vegetativa idéntica a la que les dio origen; este proceso recibe el nombre de germinación de la spora. La germinación se produce por el calentamiento suave o la presencia de nutrientes determinados; la spora capta agua, se hincha, se desprenden sus cubiertas y se forma la célula vegetativa idéntica a la original. El ciclo vital de una bacteria productora de esporos se ilustra en la figura 9.

La estructura de la spora es compleja y se distinguen de afuera hacia adentro: el exosporio, capa delicada y delgada; la cubierta, compuesta por muchas capas de proteínas, puede ser gruesa; la corteza, constituida por peptidoglicano modificado, con menos enlaces que en la célula vegetativa, puede ocupar la mitad del volumen celular; la pared celular de la spora rodeando al protoplasto y el protoplasto, conteniendo las estructuras celulares normales como ribosomas y un nucleoide.

Aún no se ha determinado por que la spora es tan resistente al calor y otros agentes letales. El 15% del peso seco de la spora consiste en ácido dipicolínico que forma complejos con iones de calcio. Quizá el complejo dipicolinato cálcico estabilice los ácidos nucleicos de las esporas. Recientemente se han descubierto en endosporas, proteínas pequeñas, solubles en ácido que se unen específicamente al ADN, lo saturan y lo protegen del calor, la radiación, la desecación y las sustancias químicas. La deshidratación del protoplasto parece ser muy importante en la resistencia al calor. La corteza puede eliminar osmóticamente el agua del protoplasto y proteger así a la célula del calor y la radiación. En resumen, la resistencia

**Figura 9.** Esquema del proceso de esporulación

al calor de las endosporas se produce por: estabilización del ADN por dipicolinato cálcico y proteínas solubles en ácido, deshidratación del protoplasto y mayor estabilidad de las proteínas celulares en bacterias adaptadas a crecer a temperaturas elevadas, entre otras.

La formación de esporas, esporogénesis o esporulación, comienza cuando cesa el crecimiento debido a una falta de nutrientes. Los cambios que ocurren durante la esporulación son el resultado del cese de la función de ciertos genes vegetativos y de la expresión de nuevos genes. La formación de esporos se regula negativamente: la célula elabora un represor; a partir de algún componente del medio, que impide la iniciación de la esporulación. Cuando este compuesto se agota, se libera la inhibición y se inicia la esporulación. El factor específico que regula la iniciación de la esporulación es el trifosfato de guanosina (GTP). La disminución del pool de GTP es suficiente para iniciar la esporulación en algunas especies bacterianas estudiadas.

La transformación de esporas inactivas en células vegetativas es casi tan compleja como la esporulación. Se producen tres fases: activación, germinación y crecimiento. La primera es un proceso reversible que se produce generalmente por calentamiento o por sustancias químicas. Una endospora no germinará satisfactoriamente, incluso en un medio rico en nutrientes, si no ha sido activada. En la germinación termina el estado de reposo de la espora. Es un proceso irreversible desencadenado por la exposición del espora activado a algunos nutrientes y otros estimulantes (alanina, otros aminoácidos, nucleósidos y glucosa). Se caracteriza por hinchazón de la espora, rotura o absorción de la cubierta de ésta, pérdida de la resistencia al calor y otros factores estresantes, pérdida de la refractividad, liberación de los componentes de la espora y aumento de la actividad metabólica. Por último, en el crecimiento, el protoplasto de la espora sintetiza nuevos componentes, emerge a partir de los restos de la cubierta de la espora y se transforma nuevamente en una bacteria activa.

**Bibliografía**

---

- Prescott, Harley, Klein. Microbiología. Mc Graw-Hill Interamericana de España. 4ª ed. 1999.
- Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI, Guerra H. Microbiología. Mecanismos de las enfermedades infecciosas. Ed Panamericana. 2ª ed. Buenos Aires 1993
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilgert CM. editores, Zinsser Microbiología. 20ª ed. BsAs. Panamericana; 1994.